



SUPLEMENTAÇÃO E METABOLISMO DE BIOTINA EM BOVINOS

Paulo José Bastos Queiroz¹, Saulo Humberto de Ávila Filho¹, Kamilla Dias Ferreira¹,
Thais Poltronieri dos Santos², Luiz Antônio Franco da Silva³

1 Médico(a) Veterinário(a), mestrando(a) em Ciência Animal pela Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.
E-mail: paulojose.vet@hotmail.com

2 Graduanda em Medicina Veterinária pela Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

3 Médico Veterinário, Professor Doutor da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_229

RESUMO

A biotina é uma vitamina do complexo B que está envolvida em diversas vias metabólicas, tais como: lipogênese, gliconeogênese, síntese e degradação de ácidos graxos e a degradação do aminoácido leucina. Essa vitamina atua como cofator de quatro carboxilases: acetil-CoA carboxilase (ACC), propionil-CoA carboxilase (PCC), piruvato carboxilase (PC) e β -Metilcrotonil-CoA carboxilase (MCC). A principal função da biotina é o transporte de dióxido de carbono (CO_2) nas reações de carboxilação, descarboxilação e transcarboxilação. Ela atua também como um cofator importante no desenvolvimento de tecidos cornificados, estando envolvida nos processos de diferenciação de células epidérmicas, queratinização e na produção da substância cementante intercelular (SCI). Em ruminantes, a deficiência de biotina é rara, visto que a microbiota ruminal é capaz de sintetizar essa vitamina em quantidades suficientes para suprir as necessidades do animal. Entretanto, estudos mostraram que a suplementação de biotina para bovinos promove efeitos positivos na saúde do casco e na produção leiteira. A principal hipótese para os benefícios da biotina para a qualidade do casco é a maior produção de lipídeos, que compõem a SCI e a maior produção de queratina. Entretanto, os mecanismos envolvidos nesses processos ainda não foram totalmente esclarecidos. Diante disso, a suplementação de biotina para bovinos é um manejo nutricional que deve ser considerado pelos produtores e médicos veterinários, visando reduzir gastos com tratamentos de doenças digitais e aumentar a produção leiteira.

PALAVRAS-CHAVE: carboxilação, casco, gliconeogênese, queratina, produção leiteira.

BIOTIN SUPPLEMENTATION AND METABOLISM IN CATTLE: LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

Biotin is a B-group vitamin that is involved in many metabolic pathways, among them: lipogenesis, gluconeogenesis, synthesis and degradation of fatty acids and leucine degradation. Biotin acts as a cofactor of four carboxylases: Acetyl-CoA carboxylase (ACC), propionyl-CoA carboxylase (PCC), pyruvate carboxylase (PC) and β -

methylcrotonyl-CoA carboxylase (MCC). It's main function is the transport of carbon dioxide (CO₂) in carboxylation, decarboxylation and transcarboxylation reactions. Biotin also acts as an important cofactor in the development of cornified tissues and it is involved in epidermal cell differentiation processes, keratinization and intercellular cementing substance (ICS) production. In ruminants, biotin deficiency is rare, because the rumen microflora is able to synthesize this vitamin in sufficient quantities to the animal supplement needs. However, studies have shown that cattle biotin supplementation promotes positive effects on hoof health and milk production. It is believed that the improvement of biotin for hoof quality is caused by the increased production of lipids that compose the ICS and increased production of keratin. However, the mechanisms involved in these processes have not been fully clarified. Therefore, biotin supplementation for cattle is a nutritional management that should be considered by producers and veterinarians to reduce spending on digital disease treatments and increase milk production.

KEYWORDS: carboxylation, gluconeogenesis, hoof, keratin, milk production

INTRODUÇÃO

As vitaminas hidrossolúveis representam um grupo de nutrientes estrutural e funcionalmente independentes, que compartilham uma característica em comum: são essenciais para a saúde e o bem-estar dos seres vivos. Esses micronutrientes desempenham funções essenciais para a manutenção do metabolismo, produção de energia, diferenciação e crescimento celular (SAID, 2004). Dentre as vitaminas hidrossolúveis, está a biotina, uma vitamina do complexo B, também denominada de vitamina H e vitamina B7, a qual é essencial para a vida dos mamíferos (SAID, 2002). Essa vitamina apresenta grande importância para a lipogênese, a gliconeogênese e para o catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada, sendo sua principal função metabólica o transporte do dióxido de carbono (CO₂) nas reações de carboxilação, descarboxilação e transcarboxilação (McMAHON, 2002). Além disso, a biotina também atua como cofator importante no desenvolvimento de tecidos cornificados saudáveis, estando envolvida nos processos de diferenciação de células epidérmicas, queratinização e na produção da substância cementante intercelular (SCI) dos tecidos queratinizados (MULLING et al., 1999).

Em ruminantes, a deficiência de biotina é rara, visto que a microbiota ruminal é capaz de sintetizar essa vitamina em quantidades suficientes para suprir as necessidades do animal (NRC, 2001). Entretanto, estudos mostraram que a suplementação de biotina para bovinos promove efeitos positivos no metabolismo e na produção leiteira, sugerindo que o requerimento de biotina nesses animais pode não ser suprido, plenamente, apenas pela síntese dessa vitamina no rúmen (ZIMMERLY & WEISS, 2001; BERGSTEN et al., 2003; MAJEE et al., 2003; ROSENDO et al., 2004). Além disso, experimentos *in vitro* e *in vivo* mostraram que a síntese de biotina pela microbiota ruminal é reduzida em dietas com alta taxa de concentrado, em razão do maior consumo e/ou menor síntese de biotina pelas bactérias ruminais (ABEL et al., 2001; SANTSCHL et al., 2005).

A biotina é possivelmente a vitamina de maior importância para o processo de queratinização dos tecidos córneos, assim o consumo adequado dessa vitamina é fundamental para formação de cascos de qualidade (TOMLINSON et al., 2004). Embora sinais clínicos de deficiência de biotina dificilmente ocorram em ruminantes, a literatura mostra que a suplementação prolongada de bovinos com essa vitamina promove efeitos positivos sobre a saúde e qualidade dos cascos

(CAMPBELL et al., 2000; FITZGERALD et al., 2000; HEDGES et al., 2001; BERGSTEN et al., 2003; POTZSCH et al., 2003; SILVA et al., 2010). Ainda, vários trabalhos demonstraram incremento da produção leiteira em vacas suplementadas com biotina (ZIMMERLY & WEISS, 2001; BERGSTEN et al., 2003; MAJEE et al., 2003; FERREIRA et al., 2007; ENJALBERT et al., 2008; CHEN et al., 2012), entretanto as razões para esse efeito positivo permanecem desconhecidas. Ainda que a literatura mostre os benefícios da suplementação de biotina para ruminantes, ainda não há dados disponíveis para quantificar a exigência de biotina em vacas leiteiras (NRC, 2001).

Dessa forma, esse trabalho objetivou apresentar uma breve revisão de literatura sobre o metabolismo e as funções metabólicas da biotina, bem como os efeitos da suplementação dessa vitamina para bovinos.

ASPECTOS HISTÓRICOS

A biotina foi inicialmente reconhecida como um fator de crescimento microbiano. Em 1901, Eugene Wildiers sugeriu que as leveduras necessitavam de uma “substância” orgânica acessória para se desenvolverem adequadamente. Wildiers denominou essa “substância” de fator “bios” (LANSKA, 2012). Em 1927, Margaret Boas realizou experimentos fornecendo apenas clara de ovo crua como fonte de proteína para ratos. Observou-se que após 21 dias, os animais apresentaram perda de peso, dermatite, alopecia e desordens neuromusculares, sendo essa síndrome denominada de “doença da clara do ovo”. BOAS identificou que a adição de leveduras e fígado cru na dieta dos ratos, prevenia o aparecimento dos sintomas dessa doença e denominou essa substância de “fator de proteção X” (BOAS, 1927).

Em 1936, o bioquímico Fritz Kögl e seu aluno de pós-graduação Brenno Tönnis isolaram uma substância cristalina proveniente de gemas de ovos de pato, a qual nomearam “biotina”, pois acreditavam que se tratava de um dos componentes do fator “bios” (LANSKA, 2012). Três anos depois, Paul György denominou a substância que evitava a “doença da clara de ovo” de vitamina H, em referência a palavra *haut* que em alemão significa pele. Esse pesquisador acreditava que essa substância exercia um efeito antitóxico, semelhante ao de outras vitaminas já descobertas (GYÖRGY, 1939; LANSKA, 2012). Em seguida, Paul György e outros pesquisadores concluíram que a vitamina H e a biotina eram, na verdade, a mesma substância capaz de prevenir a “doença da clara do ovo” nos animais (DU VIGNEAUD et al., 1940; GYÖRGY et al., 1941). Logo depois, isolou-se na clara de ovo uma proteína que tinha a capacidade de ligar-se a biotina e impedir a absorção pelo organismo. Inicialmente, essa proteína foi chamada de “avidalbumin”, em razão de sua semelhança com a albumina (GYÖRGY et al., 1941). Posteriormente, seu nome foi modificado para avidina, devido a afinidade pela biotina (avid + biotin) (KRESGE et al., 2004; LANSKA, 2012). A alta afinidade e especificidade entre a avidina e a biotina é, atualmente, utilizada em vários ensaios bioquímicos, biológicos e farmacêuticos (MOCK, 2007; BU et al., 2013; KHAN & PARK, 2015; YOETZ-KOPELMAN et al., 2015)

Entre 1940 e 1942, vários estudos foram publicados com o objetivo de descrever a fórmula química da biotina (DU VIGNEAUD et al., 1940; HOFMANN et al., 1941; MELVILLE et al., 1942). No ano seguinte, pesquisadores do laboratório Merck and Company em Nova Jersey produziram pela primeira vez biotina sintética (HARRIS et al., 1943). Posteriormente, pesquisas demonstraram a importância da biotina como cofator de várias enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos,

metabolismo de aminoácidos e gliconeogênese (LYNEN, 1967; KNOWLES, 1989; JITRAPAKDEE & WALLACE, 2003). Diante de sua importância, o papel da biotina como vitamina foi reconhecido a partir de 1960 (VANNUCCHI & CUNHA, 2009).

ESTRUTURA QUÍMICA DA BIOTINA

A biotina é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B. A estrutura química é bicíclica, sendo composta por um anel imidazólico, que contém um grupo ureído (NH – C – NH) e um anel tetrahidrotiofeno, que possui uma cadeia lateral de ácido valérico e um átomo de enxofre. (Figura 1) (MOCK, 2007). O grupo ureído presente na biotina é fundamental para que essa vitamina efetue a sua função de transportadora de CO₂. O nome químico dessa vitamina é 2-ceto-3,4imidazolido-2-tetrahidrotiofeno-*n*-ácido valérico (McDONALD et al., 2010) e sua fórmula empírica é C₁₁H₁₈O₃N₂S (McDOWELL, 2000). A biotina é um ácido monocarboxílico que contém uma ligação tioéster (R-S-R), formada pela ligação simples entre dois átomos de carbono e um átomo de enxofre. A estrutura química da biotina contém três carbonos assimétricos e, conseqüentemente, oito diferentes isômeros possíveis, entretanto desses isômeros, apenas um possui atividade de vitamina, a D-biotina (McDOWELL, 2000).

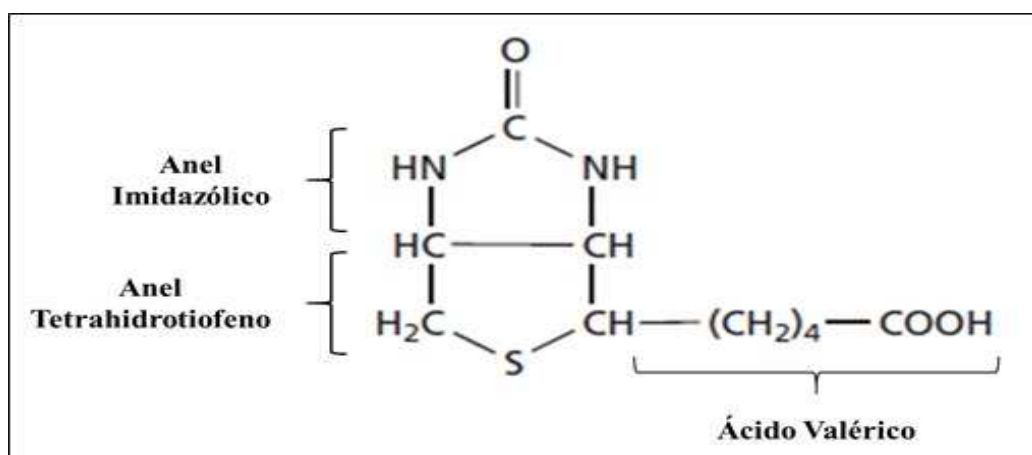


FIGURA 1 – Estrutura química da biotina.

Fonte: Adaptado de McDONALD et al. (2010)

FONTES DE BIOTINA

A biotina pode ser encontrada naturalmente em plantas e, portanto, está presente em abundância na dieta de ruminantes alimentados com forrageiras (Quadro 1) (BHADAURIA et al., 2013). Os ruminantes ingerem diariamente quantidades variáveis dessa vitamina, sabe-se que em média, dietas típicas de vacas leiteiras apresentam 0,2 a 0,4 mg/kg de biotina na matéria seca (MS), que representa ingestão diária de 4 a 10 mg em vacas leiteiras não suplementadas (WEISS, 2001). A população bacteriana presente no rúmen e no intestino grosso é capaz de sintetizar biotina, sendo parte absorvida pelo organismo, porém as informações sobre a quantidade de biotina sintetizada nesses locais são limitadas e variáveis (WEISS, 2001; BHADAURIA et al., 2013).

QUADRO 1 – Concentração de biotina presente nos alimentos comumente fornecidos para vacas leiteiras

Alimento	Biotina (mg/kg de MS)
Grãos ricos em amido	0,09
Farelo de soja	0,27
Farelo de trigo	0,33
Feno de forrageiras	0,45
Resíduo de cevada	0,6
Melaço de cana	0,8

Fonte: Adaptado de WEISS (2001)

DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE BIOTINA

Os mamíferos não são capazes de sintetizar vitaminas hidrossolúveis, com exceção de uma pequena quantidade de niacina. Dessa forma, a obtenção desses nutrientes ocorre por fontes exógenas via alimentação e absorção intestinal (SAID, 2004). A biotina está disponível em muitos alimentos, tais como fígado, leite, fermento, oleaginosas e vegetais (BENDER, 2003). Nos alimentos, essa vitamina pode ser encontrada conjugada a proteínas ou em forma livre. Quando conjugada a proteínas, a biotina não pode ser absorvida pela mucosa intestinal, necessitando de degradação proteica para a liberação da forma livre (BENDER, 2003; VANNUCCHI & CUNHA, 2009). Inicialmente, proteases e peptidases gastrointestinais hidrolisam as proteínas conjugadas a biotina, promovendo a liberação da biotocina, composto no qual essa vitamina encontra-se conjugada ao aminoácido lisina (biotina- ϵ -lisina) (Figura 2) (SAID, 2009). Em seguida, a biotocina é hidrolisada pela ação da biotinidase, enzima altamente específica, presente no suco pancreático e em secreções da mucosa intestinal. A hidrólise realizada pela biotinidase libera a forma livre da biotina, que pode então ser absorvida pela mucosa intestinal (MOCK, 2007). Além dessa função, a biotinidase pode atuar, também, como proteína carreadora de biotina, realizando o transporte dessa vitamina no sangue e no meio intracelular (ENGELKING, 2011).

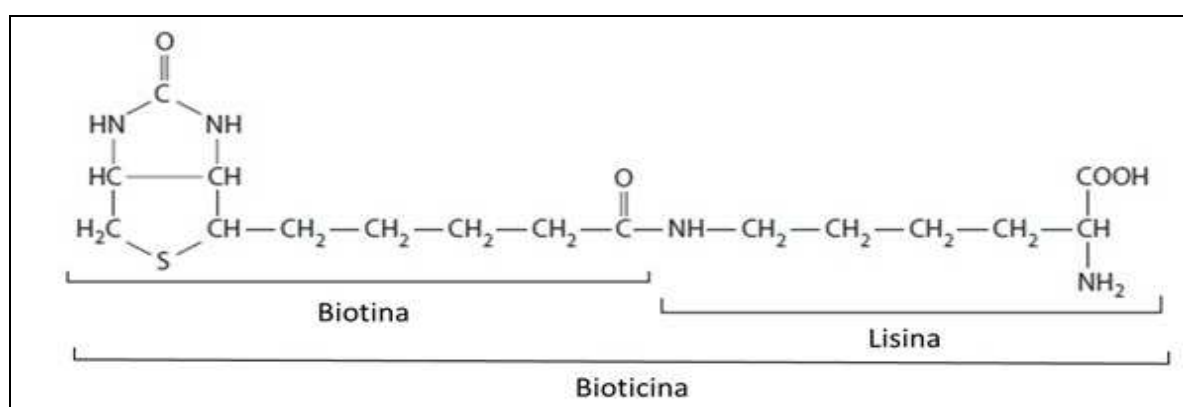


FIGURA 2 – Estrutura química da biotocina.

Fonte: Adaptado de GROPPER & SMITH (2012)

Estudos *in vitro* mostraram que a absorção de biotina no intestino ocorre por meio de um mecanismo de transporte dependente de energia e sódio (Na^+) (BENDER, 2003). Esse mecanismo de transporte é estruturalmente específico, exigindo um grupo carboxila livre na cadeia lateral do ácido valérico na estrutura química da biotina (SAID, 2009). O sistema de transporte intestinal de biotina

também é responsável pelo transporte de outros dois micronutrientes: o ácido pantotênico (vitamina B5) e o ácido lipóico. Por isso, esse sistema de transporte foi denominado de transportador multivitamínico ativo sódio dependente (TMASD) (SAID, 2004; MOCK, 2007), o qual é responsável pelo carreamento da biotina através da membrana borda em escova do enterócito, contra o gradiente de concentração, também conhecido como transporte ativo (Figura 3). Em seguida, a biotina é transportada através da membrana basolateral do enterócito para a circulação portal. Esse segundo mecanismo de transporte é mediado por um sistema que não depende de sódio, no qual a transferência da biotina do citoplasma do enterócito para a circulação, ocorre a favor do gradiente de concentração, ou seja, transporte passivo (Figura 3) (SAID & REDHA, 1988; SAID, 2009). O mecanismo de absorção intestinal da biotina foi descrito em várias espécies, incluindo humanos, ratos e coelhos. Dessa forma, possivelmente, esse mecanismo não apresente grandes variações entre os mamíferos (SAID, 1999).

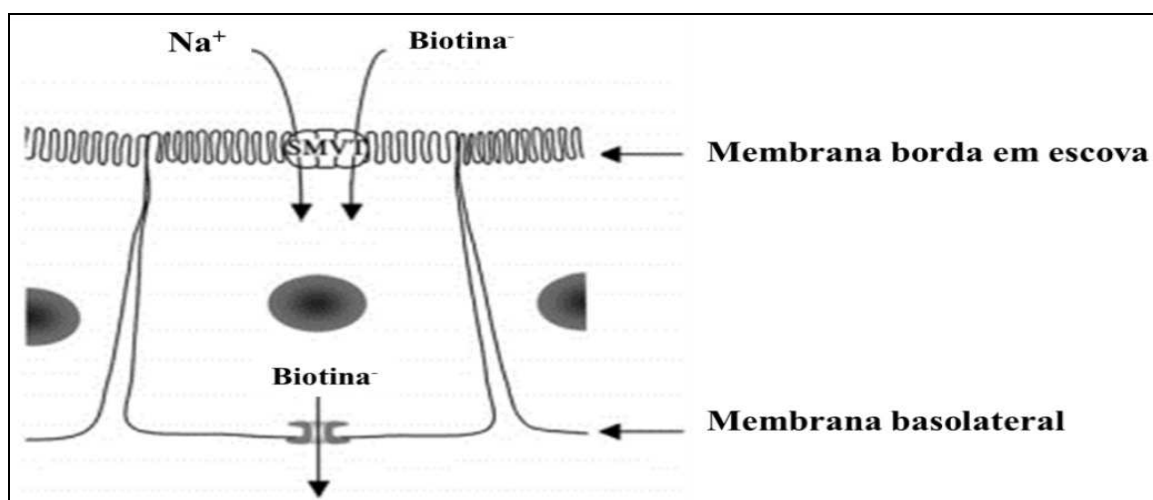


FIGURA 3 – Compreensão atual de como a biotina é transportada através dos enterócitos humanos. SMVT: Transportador multivitamínico ativo sódio dependente.

Fonte: Adaptado de SAID (2009)

A absorção intestinal de biotina é regulada por vários mecanismos, incluindo a carência nutricional dessa vitamina no indivíduo, a maturidade do enterócito, a localização anatômica das regiões de maior absorção e a atividade de sinalizadores intracelulares específicos (SAID, 2004; MOCK, 2007). Um estudo em ratos demonstrou que a deficiência de biotina promove aumento de sua absorção intestinal. Essa regulação adaptativa de absorção ocorre, possivelmente, em função do aumento do número e/ou da atividade dos transportadores, e não por um aumento da afinidade dos transportadores pela biotina (SAID, 2004).

Além disso, evidências sugerem que o processo de absorção intestinal dessa vitamina é regulado, também, por moléculas sinalizadoras intracelulares dos enterócitos, tais como a proteína cinase C (PKC) e a calmodulina (CaM) (MOCK, 2007). Em um estudo *in vitro*, observou-se que a maior ativação da proteína cinase C (PKC) levou a uma redução da absorção intestinal de biotina, enquanto que a inibição da calmodulina (CaM) promoveu, também, redução da absorção dessa vitamina. Os mecanismos envolvidos na ativação e inibição dessas moléculas sinalizadoras não estão claros, porém a atividade dessas moléculas, provavelmente,

regule a quantidade de transportadores de biotina na superfície dos enterócitos (SAID, 1999).

Enterócitos de animais adultos apresentam maior número e/ou maior atividade de moléculas transportadoras de biotina, em comparação aos enterócitos de animais lactentes. Entretanto, enterócitos de animais lactentes possuem transportadores com maior afinidade pela biotina. Assim, embora animais em desenvolvimento necessitem de uma quantidade menor de biotina, eles requerem uma absorção mais rápida dessa vitamina (NABOKINA et al., 2003). Por fim, observa-se que absorção de biotina é maior na porção cranial do intestino delgado e reduz, progressivamente, em direção ao intestino grosso (MOCK, 2007). Porém, estudos realizados em humanos, ratos e miniporcos mostraram que a mucosa do cólon também é capaz de absorver quantidades consideráveis de biotina (SAID, 1999).

TRANSPORTE DE BIOTINA NO ORGANISMO

A concentração de biotina no sangue é pequena quando comparada a outras vitaminas hidrossolúveis. Grande parte da biotina presente no sangue encontra-se na forma livre, dissolvida na fase aquosa do plasma (MOCK, 2007). Estudos em humanos revelaram que a proporção de biotina livre no plasma é de 81%, o restante encontra-se conjugada a enzima biotinidase, em dois tipos de ligações: ligação irreversível (covalente) (12%) e ligação reversível (não covalente) (7%) (MOCK & MALIK, 1992). A biotinidase encontra-se em todos os tecidos e é a principal ligante de biotina no plasma, atuando como uma proteína carreadora e impedindo a excreção na urina (BENDER, 2003).

A absorção hepática de biotina apresenta importância, pois o fígado é o local de maior concentração e atividade de enzimas dependentes de biotina, necessitando de grande aporte dessa vitamina (BALAMURUGAN et al., 2003). A absorção de biotina pelos hepatócitos é mediada por dois mecanismos: difusão simples e transporte ativo. Nesse último caso, trata-se de um mecanismo de transporte especializado, que depende de energia e do gradiente de sódio (MOCK, 2007). Um estudo com cultura de hepatócitos evidenciou que esse transportador especializado do fígado é o mesmo TMASD, encontrado na mucosa intestinal (BALAMURUGAN et al., 2003). Após entrar no hepatócito, a biotina difunde-se para as mitocôndrias por meio de um processo dependente de pH. Ela entra na mitocôndria na forma neutra (protonada), a qual apresenta maior facilidade para atravessar membranas. Ao adentrar no ambiente alcalino mitocondrial, a biotina dissocia-se em forma aniônica, adquirindo uma carga negativa, a qual impede a saída da matriz mitocondrial (MOCK, 2007).

Um estudo em humanos mostrou que os queratinócitos apresentam dois mecanismos de transporte de biotina, sendo um deles o TMASD, entretanto nessas células, esse transportador possui maior afinidade pelo ácido pantotênico. O outro mecanismo de transporte presente nos queratinócitos, aparentemente, é específico para a biotina, não realizando o transporte de outras moléculas. A relevância fisiológica dos queratinócitos apresentarem dois tipos de transportadores de biotina, esteja relacionada a importância dessa vitamina para a saúde dos tecidos queratinizados (GRAFE et al., 2003).

Um sistema específico de reabsorção de vitaminas hidrossolúveis presentes no filtrado glomerular, possivelmente, contribui de forma significativa para a manutenção desses micronutrientes no organismo (MOCK, 2007). Quanto a biotina, observou-se que sua reabsorção pelo epitélio tubular proximal é realizada

pelo TMSD, o mesmo encontrado na mucosa intestinal, fígado e nos queratinócitos (BENDER, 2003). Em indivíduos com deficiência de biotina, observa-se uma maior reabsorção dessa vitamina pelo epitélio tubular e, conseqüentemente, redução na excreção urinária (MOCK et al., 2002). Esse eficiente sistema de reabsorção, associado a reciclagem da biotina após o catabolismo das enzimas que a utilizam como cofator, apresentam-se como mecanismos importantes para a prevenção da deficiência de biotina em humanos e em outros mamíferos (BENDER, 2003).

METABOLISMO RUMINAL DA BIOTINA

Os ruminantes possuem uma relação simbiótica bem-sucedida com a microbiota ruminal. No rúmen, uma população microbiana composta por: bactérias, protozoários e fungos aproveitam-se do ambiente anaeróbico e do suprimento nutritivo para sobreviverem (SILVA et al., 2012). Por sua vez, esses microrganismos produzem proteínas de alto valor biológico, vitaminas e ácidos orgânicos de cadeia curta, que suprem as necessidades energéticas e metabólicas dos ruminantes (RUSSELL & RYCHLIK, 2001). Embora a literatura mais antiga sugira que a microbiota ruminal sintetize em abundância todas as vitaminas do complexo B⁶, estudos mostraram que não há produção de grandes quantidades de biotina no rúmen (SCHWAB et al., 2006; SANTOSCHI & GIRARD, 2007). A síntese ruminal aparente (SRA) de uma determinada vitamina é calculada como a quantidade dessa vitamina que chega ao duodeno, menos a quantidade ingerida. Em um experimento com vacas em lactação, observou-se que em todas as dietas utilizadas, a SRA de biotina foi negativa, sugerindo que a quantidade de biotina que chegou ao duodeno foi menor do que a quantidade ingerida (SCHWAB et al., 2006). Em outro estudo com vacas em lactação, encontrou-se uma SRA de biotina de -1 mg/dia, enquanto que outras vitaminas do complexo B, tais como niacina e riboflavina apresentaram SRA de 2.213 mg/dia e 267 mg/dia respectivamente (SANTOSCHI et al., 2005). Dessa forma, esses estudos demonstram que não há síntese de grandes quantidades de biotina pela microbiota ruminal ou que essa vitamina é degradada na mesma proporção em que é sintetizada no rúmen (SCHWAB et al., 2006).

A relação concentrado:volumoso na dieta é um fator que influencia diretamente a síntese e a utilização de biotina pelos microrganismos ruminantes. Sabe-se que o fornecimento de dietas com alto teor de concentrado e baixo teor de volumoso ocasiona acidificação do ambiente ruminal (SILVA et al., 2012). Um estudo realizado em rúmen artificial demonstrou que a síntese de biotina foi reduzida em aproximadamente 50%, quando elevou-se a proporção de concentrado na dieta de 20% para 50% (ABEL et al., 2001). Segundo os autores desse estudo, o fornecimento de dietas com alto teor de concentrado e baixo teor de volumoso promove menor síntese de biotina pelos microrganismos ruminantes e, conseqüentemente, há diminuição da disponibilidade dessa vitamina para a absorção intestinal (ABEL et al., 2001, ABEL et al., 2006; BHADOURIA et al., 2013). Dessa forma, vacas leiteiras de alta produção possuem maior propensão a menor síntese de biotina pela microbiota ruminal, pois são geralmente, alimentadas com dietas de alta proporção de concentrado (ROSENDO et al., 2004). Além disso, a concentração de biotina em forrageiras (volumoso) é maior do que em grãos (concentrado), logo o fornecimento de dietas com menor proporção de volumoso contribui, para menor disponibilidade de biotina no rúmen (ABEL et al., 2001; ABEL et al., 2006). Esses resultados podem auxiliar na elucidação dos motivos pelos quais vacas leiteiras de alta produção apresentam maior predisposição a doenças digitais (BHADOURIA et al., 2013).

Em outro estudo com rúmen artificial, observou-se que a utilização de biotina pela microbiota ruminal foi menor em pH de 5,3. Segundo os autores, esse fato provavelmente ocorra em razão do menor crescimento de bactérias celulolíticas em pH ácido (ROSENDO et al., 2003). O fornecimento de dietas ricas em concentrado promove alterações na composição da microbiota ruminal, promovendo maior produção de ácidos graxos voláteis (AGV) e redução do pH ruminal. Quando o ambiente ruminal apresenta-se ácido, observa-se redução das bactérias celulolíticas e aumento das bactérias amilolíticas (SILVA et al., 2012). Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de mais biotina para se desenvolverem do que as bactérias amilolíticas, assim a redução das bactérias celulolíticas no rúmen, resulta em menor degradação e menor síntese de biotina (SCOTT & DEHORITY, 1965).

Em vacas suplementadas com vitaminas do complexo B, observou-se que 45,2% da biotina suplementada foi degradada ou utilizada pela microbiota ruminal antes de chegar ao duodeno (SANTSCHI et al., 2005). Resultado que sugere que a suplementação dessa vitamina na forma desprotegida, não resulta na completa degradação ou utilização pela microbiota ruminal (CHEN et al., 2011). Outras vitaminas do complexo B, tais como riboflavina, niacina e ácido fólico apresentaram taxas de degradação ruminal de 99,3%, 98,5% e 97% respectivamente. Nesse mesmo estudo, observou-se uma taxa de absorção aparente de biotina de 37% em vacas suplementadas com 20 mg/dia dessa vitamina. Vacas não suplementadas apresentaram taxa de absorção aparente de biotina de 28%, sugerindo, assim, que parte da biotina suplementada não é degradada pela microbiota ruminal e passa pelo rúmen para ser absorvida no intestino delgado (SANTSCHI et al., 2005). Comprovando essa afirmação, observou-se que vacas suplementadas com 20 mg/dia de biotina por via oral, apresentaram concentração plasmática dessa vitamina significativamente maior (9,4 nmol/L), do que vacas não suplementadas (4,3 nmol/L) (ROSENDO et al., 2004). Em outro estudo, verificou-se que vacas suplementadas com biotina apresentaram absorção intestinal entre 50 e 60% do total suplementado, correspondendo a um aporte de 2,5 mg/dia dessa vitamina (FRIGG et al., 1994).

FUNÇÕES METABÓLICAS DA BIOTINA

Nos mamíferos, a biotina atua como cofator essencial para quatro carboxilases, as quais realizam transporte e fixação de CO₂ em reações de diversas vias metabólicas, tais como: a síntese e degradação de ácidos graxos, a gliconeogênese, a produção de oxaloacetato, a síntese de proteínas e a degradação de aminoácidos (MOCK, 2007; LOMBARD & MOREIRA, 2011). Além disso, essa vitamina atua como cofator em várias reações de descarboxilação e transcarboxilação, realizadas pelas bactérias ruminais e intestinais (BENDER, 2003). Os cofatores são substâncias orgânicas e inorgânicas (íons metálicos) necessárias para o funcionamento das enzimas. Os cofatores orgânicos são conhecidos como coenzimas e, geralmente, derivam de vitaminas e outros nutrientes orgânicos. Coenzimas e íons metálicos ligam-se, geralmente, de forma covalente à porção proteica da enzima, conhecida como grupo prostético (NELSON & COX, 2008). Muitas vitaminas hidrossolúveis funcionam como precursores de coenzimas, dentre estas a biotina apresenta-se como precursora da coenzima biotina (Quadro 2) (VOET & VOET, 2011).

QUADRO 2 – Vitaminas do complexo B precursoras de coenzimas e a reação que estas promovem

Fonte vitamina	Coenzima	Reação promovida
Biotina (B ₇)	Biotina	Carboxilação
Cobalamina (B ₁₂)	Coenzimas de cobalamina	Alquilação
Ácido Fólico (B ₉)	Tetrahidrofolato	Transferências de grupos de 1-carbono
Nicotinamida (B ₃)	Coenzimas de nicotinamida	Oxidação-redução
Ácido pantotênico (B ₅)	Coenzima A	Transferência de grupos acila
Piridoxina (B ₆)	Fosfato de piridoxal	Transferência de grupo amino
Riboflavina (B ₂)	Coenzimas da flavina	Oxidação-redução
Tiamina (B ₁)	Pirofosfato de tiamina	Transferência de grupo aldeído

Fonte: Adaptado de VOET & VOET (2011)

As coenzimas atuam como transportadores transitórios de grupos funcionais específicos. Em cada reação enzimática que participam, as coenzimas são modificadas quimicamente, entretanto estas retornam ao estado original, completando assim, o ciclo catalítico. O conjunto enzimático ativo formado pela união de uma enzima e seu cofator é chamado de holoenzima, enquanto que a enzima inativa resultante da remoção do cofator da holoenzima é nomeada de apoenzima (Figura 4) (NELSON & COX, 2008; VOET & VOET, 2011).



FIGURA 4 – Ciclo catalítico de enzimas que necessitam de um cofator.

Fonte: Adaptado de VOET & VOET (2011)

As carboxilases dependentes de biotina (CDB) foram descobertas na década de 1960 e, desde então, vêm sendo intensivamente estudadas devido a sua importância em diversas vias metabólicas. Nos últimos anos, houve avanços significativos na compreensão da função dessas enzimas, especialmente quanto a estrutura da forma ativa (holoenzima) (TONG, 2013). Existem nove enzimas dependentes de biotina: seis carboxilases, duas descarboxilases e uma transcarboxilase. Dessas, apenas quatro estão presentes nos mamíferos. A acetil-CoA carboxilase (ACC), enzima que catalisa a formação do malonil-CoA. A piruvato carboxilase (PC), que se encontra na mitocôndria e catalisa a formação do oxaloacetato na gliconeogênese. A propionil-CoA carboxilase (PCC) que catalisa a formação do metilmalonil-CoA durante o metabolismo do propionato. E, por fim, a β-metilcrotonil-CoA carboxilase (MCC), responsável pela catalisação do β-metilcrotonil-CoA em β-metilglutaconil-CoA na via catabólica da leucina (SAMOLS et al., 1988; MOCK, 2007).

Apesar de estarem envolvidas em diversas vias metabólicas, como a gliconeogênese, lipogênese e catabolismo de aminoácidos, as CDB apresentam um mecanismo de reação comum (JITRAPAKDEE & WALLACE, 1999). Nessas reações, a biotina desempenha um papel-chave, pois atua como transportador

especializado de grupos com um átomo de carbono na forma mais oxidada, o CO₂ (NELSON & COX, 2008). Nos mamíferos, as CDB necessitam da hidrólise de uma molécula de adenosina trifosfato (ATP) para formar a carboxibiotina, que é o intermediário responsável pela transferência do CO₂ para o substrato orgânico específico (Figura 5) (SAMOLS et al., 1988).

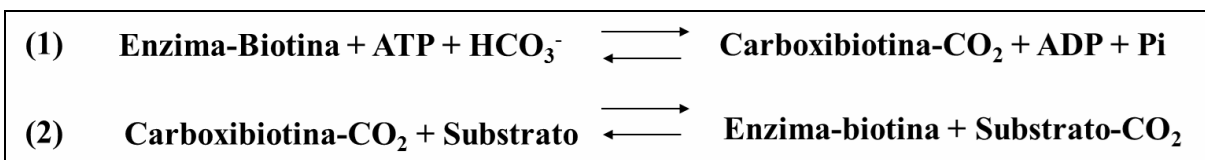


FIGURA 5 – Reação de carboxilação realizada por uma carboxilase dependente de biotina (CDB). (1) A CDB une-se a biotina e ao CO₂, mediante a hidrólise de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico (Pi), formando a carboxibiotina. (2) A carboxibiotina é o transportador especializado, responsável pelo transporte do CO₂ para o substrato.

Fonte: Adaptado SAMOLS et al. (1988)

A biotina é unida às carboxilases por uma ligação amida entre o grupo carboxila, presente no ácido valérico da biotina, e o grupo amino presente em um resíduo de lisina da carboxilase inativa (apoenzima). A cadeia que liga a biotina e a carboxilase inativa é longa e flexível, permitindo que essa vitamina se locomova do sítio ativo da carboxilase para outro sítio inativo. Dessa forma, quando esta se encontra no sítio ativo da carboxilase, forma-se a enzima carboxibiotina, que é o intermediário responsável pela transferência do CO₂ para outros substratos (Figura 6) (NELSON & COX, 2008; VOET & VOET, 2011; GROPPER & SMITH, 2012). As características das reações catalisadas pelas quatro CDB presentes nos mamíferos serão descritas a seguir.

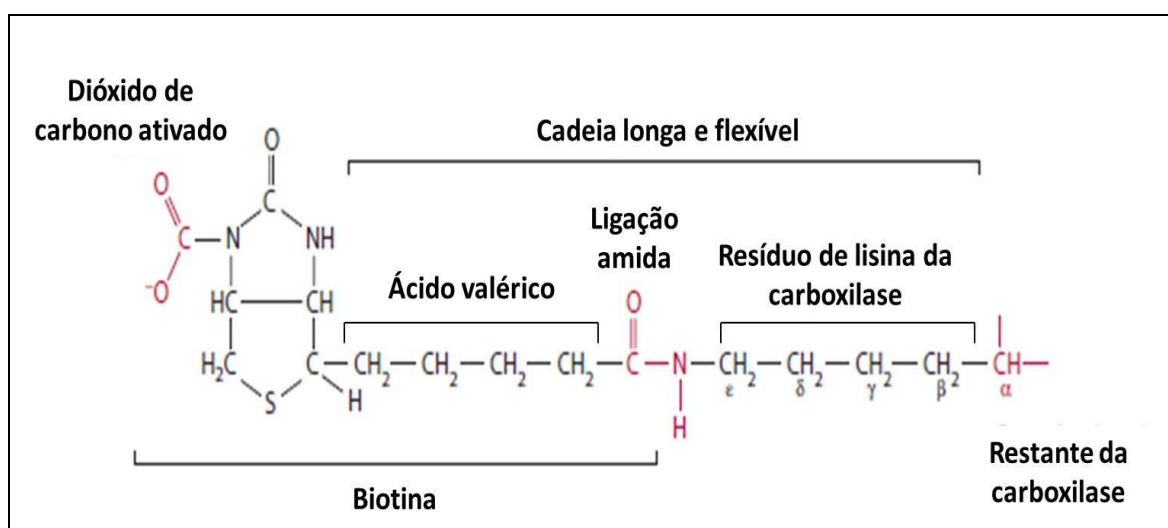


FIGURA 6 – Biotina ligada ao resíduo de lisina de uma carboxilase e funcionando como um transportador de CO₂ (carboxibiotina).

Fonte: Adaptado de GROPPER & SMITH (2012)

Acetil-CoA carboxilase (ACC)

A ACC é uma CDB que realiza a catalisação da primeira etapa da biossíntese de ácidos graxos, atuando também, como uma enzima reguladora dessa

via metabólica (VOET & VOET, 2011). A ACC catalisa a síntese irreversível de malonil-CoA, a partir de acetil-CoA. Essa enzima possui uma molécula de biotina como grupo prostético, ligada covalentemente a ACC. A reação de carboxilação ocorre em dois passos. Primeiramente, o CO₂ proveniente de uma molécula bicarbonato (HCO₃⁻) é transferido para a biotina em uma reação dependente de ATP, formando a carboxibiotina, que é responsável pela transferência do CO₂. Em seguida, a carboxibiotina atua como um transportador temporário de CO₂, transferindo-o para o acetil-CoA, formando assim o malonil-CoA (Figura 7) (NELSON & COX, 2008). Na sequência, o malonil-CoA entra em um processo de condensação catalisado pela enzima ácido graxo sintetase, resultando na formação dos ácidos graxos (VOET & VOET, 2011). Existem duas isoformas de ACC, a ACC1 que está presente no citoplasma celular e atua na biossíntese de ácidos graxos de cadeia longa no fígado, no tecido adiposo e em outros tecidos lipogênicos e a ACC2, que se localiza na membrana mitocondrial externa de miócitos e hepatócitos (TONG, 2013). A atividade da ACC1 e ACC2, em mamíferos, é aumentada por citrato e isocitrato, e inibida por derivados de ácidos graxos de cadeia longa. Elas também são ativadas em resposta a insulina e inativadas em resposta ao glucagon (BENDER, 2003).

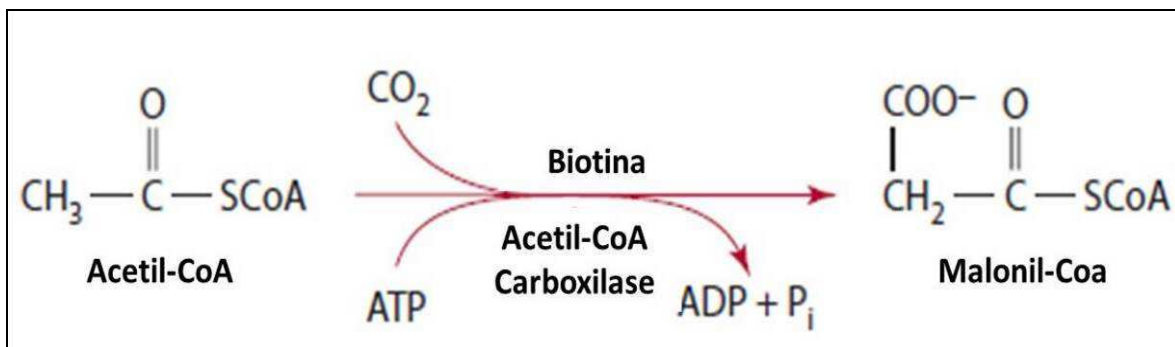


FIGURA 7 – Carboxilação do acetil-CoA em malonil-CoA. O acetil-CoA é convertido em malonil-CoA pela ação da ACC, em uma reação que necessita de biotina e ATP.

Fonte: Adaptado de GROPPER & SMITH (2012)

Piruvato carboxilase (PC)

A PC é a enzima que catalisa a conversão do piruvato em oxaloacetato. Nos mamíferos, a PC localiza-se na matriz mitocondrial e é a primeira enzima da via da gliconeogênese, sendo fundamental para a produção de glicose no fígado e nos rins (JITRAPAKDEE & WALLACE, 1999; NELSON & COX, 2008). A gliconeogênese é a via metabólica responsável pela produção de glicose através de precursores que não são carboidratos tais como: lactato, piruvato, glicerol e aminoácidos. No entanto, todas essas substâncias devem ser convertidas em oxaloacetato antes de entrarem na gliconeogênese (VOET & VOET, 2011). O oxaloacetato produzido pela PC é utilizado, também, na lipogênese e na gliceroneogênese nos adipócitos e na biossíntese de glutamato, um neurotransmissor excitatório (JITRAPAKDEE & WALLACE, 1999; TONG, 2013). Ressalte-se que o oxaloacetato é tanto um precursor para a gliconeogênese, quanto intermediário do Ciclo do Ácido Cítrico. Dessa forma, quando o “combustível” do Ciclo do Ácido Cítrico, o acetil-CoA, acumula-se na mitocôndria, ativa de forma alostérica a PC, aumentando a produção de oxaloacetato, o qual pode adentrar no Ciclo do Ácido Cítrico no decorrer do processo cíclico. Por outro lado, quando a atividade do Ciclo do Ácido Cítrico é baixa, o oxaloacetato entra na via gliconeogênica (VOET & VOET, 2011).

A PC é responsável pelo controle da taxa de gliconeogênese, sendo assim considerada a enzima reguladora dessa via. Essa enzima requer biotina como coenzima para efetuar a carboxilação do piruvato em oxaloacetato, em uma reação semelhante à realizada pela ACC (VOET & VOET, 2011). Inicialmente, o CO₂ proveniente de uma molécula de bicarbonato (HCO₃⁻) é ligado à biotina, formando a carboxibiotina. Em seguida o CO₂ é transferido ao piruvato formando, assim, o oxaloacetato, em uma reação que requer a hidrólise de ATP (Figura 8) (NELSON & COX, 2008). Na sequência, o oxaloacetato é transformado em fosfoenolpiruvato, o qual segue na via da gliconeogênese até a formação de glicose (HORTON et al., 2008).

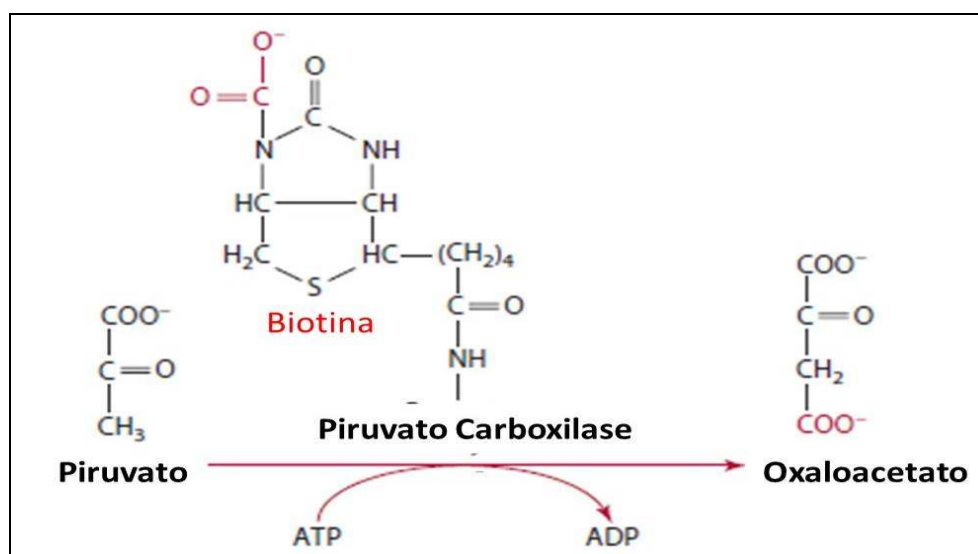


FIGURA 8 – Carboxilação do piruvato em oxaloacetato. Na mitocôndria, o piruvato é convertido pela ação da PC em oxaloacetato, em uma reação que necessita de biotina e ATP.

Fonte: Adaptado de GROPPER & SMITH 2012)

Propionil-CoA carboxilase (PCC)

A PCC é uma enzima dependente de biotina, fundamental para a oxidação de ácidos graxos com número ímpar de carbono. Embora a maioria dos lipídios produzidos naturalmente pelos mamíferos apresente ácidos graxos com número par de carbonos, os ruminantes produzem grandes quantidades de propionato, durante a fermentação de carboidratos no rúmen (NELSON & COX, 2008). O propionato é um ácido graxo volátil que contém três carbonos (CH₃-CH₂-COO⁻) e é o maior precursor de glicose em ruminantes, podendo ser utilizado tanto na via da gliconeogênese, quanto no Ciclo do Ácido Cítrico. Após a produção no rúmen, o propionato é absorvido pela corrente sanguínea e segue para o fígado, onde sofre um processo de esterificação pela enzima acil-CoA sintetase, resultando em propionil-CoA. Em seguida, o propionil-CoA é carboxilado pela PCC, enzima dependente de biotina, resultando em (D)-metilmalonil-CoA. Na sequência, a enzima metilmalonil-CoA-racemase catalisa a conversão do (D)-metilmalonil-CoA em (L)-metilmalonil-CoA, o qual é substrato para a enzima metilmalonil-CoA-mutase, que o converte em succinil-CoA, um intermediário do Ciclo do Ácido Cítrico (Figura 9) (MURRAY et al., 2012).

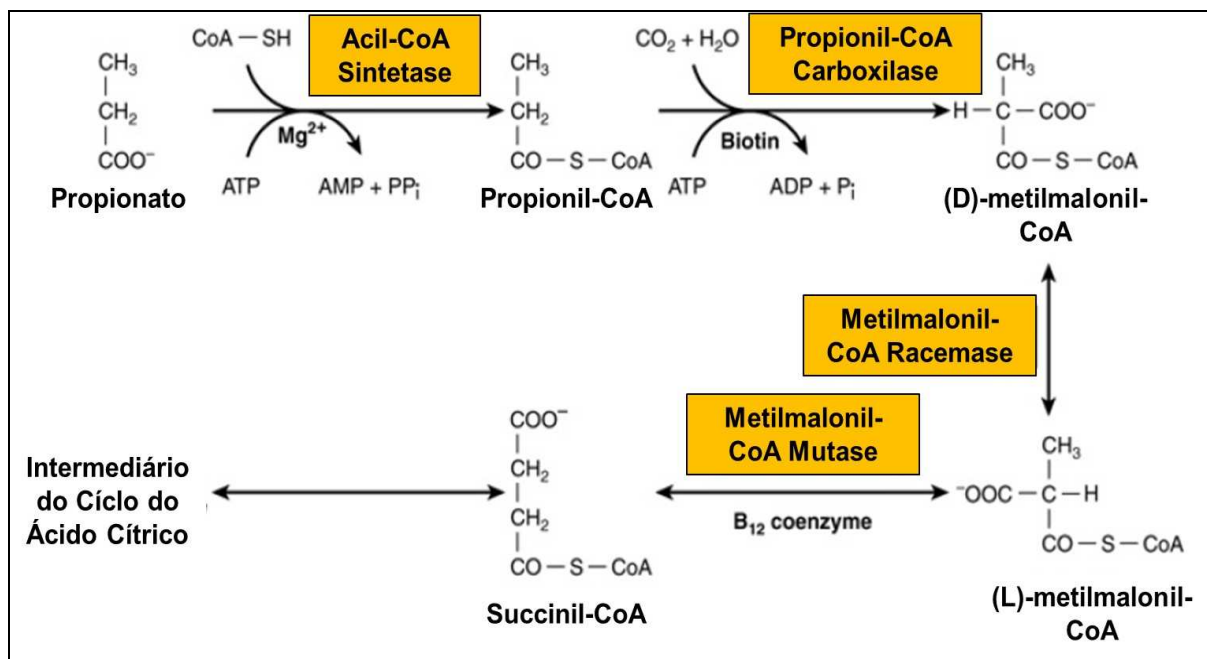


FIGURA 9 – Metabolismo do propionato. No fígado, ele sofre diversas reações que o transformam em succinil-CoA, um dos intermediários do Ciclo do Ácido Cítrico.

Fonte: Adaptado de MURRAY et al. (2012)

A carboxilação do propionil-CoA em (D)-metilmalonil-CoA catalisada pela PCC é uma reação que ocorre da mesma forma descrita para ACC e PC. Inicialmente, ocorre a carboxilação da biotina pelo íon bicarbonato (HCO_3^-), mediante a hidrólise de uma molécula de ATP, formando o intermediário carboxibiotina. Em seguida, a carboxibiotina, transfere o CO_2 para o propionil-CoA, transformando-o em (D)-metilmalonil-CoA (NELSON & COX, 2008). A PCC, também, é fundamental para o metabolismo dos aminoácidos valina, isoleucina e metionina, os quais possuem rotas degradativas complexas que resultam na produção de propionil-CoA. Esse último, como descrito anteriormente, é convertido em succinil-CoA por uma série de reações que requerem biotina e coenzima B_{12} , podendo assim, adentrar no Ciclo do Ácido Cítrico (Figura 10). Ainda quanto ao succinil-CoA, ressalte-se que este é fundamental, também, para a biossíntese do grupo Heme, o qual é componente essencial da hemoglobina, mioglobina e citocromos (VOET & VOET, 2011; TONG, 2013).

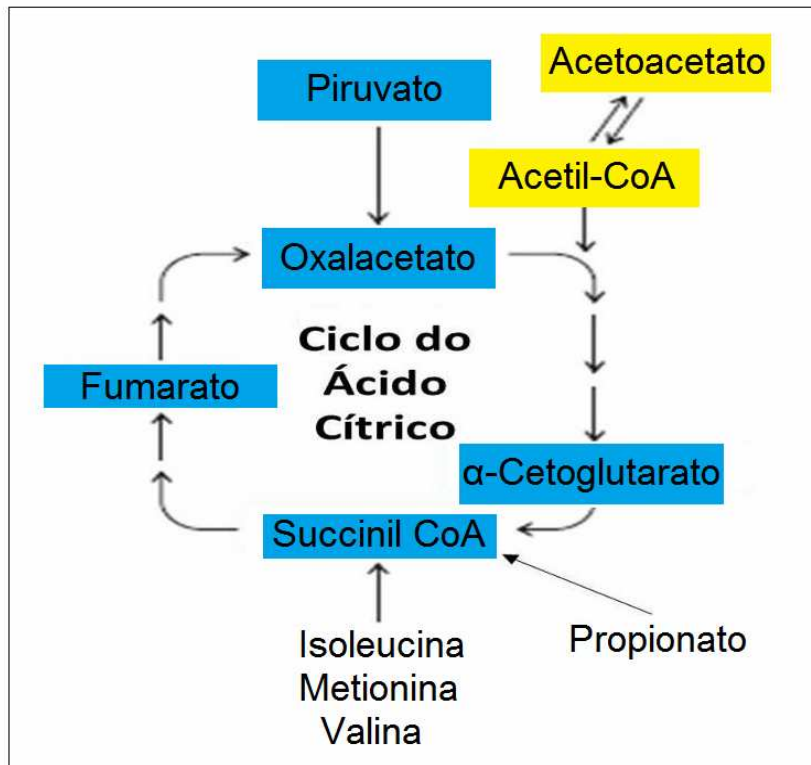


FIGURA 10 – Conversão dos ácidos graxos de cadeia ímpar e dos aminoácidos isoleucina, metionina e valina em succinil-CoA, um intermediário do Ciclo do Ácido Cítrico.
Fonte: Adaptado de HORTON et al. (2008)

β-Metilcrotonil-CoA carboxilase (MCC)

O processo de catabolismo do aminoácido leucina consiste na conversão em acetoacetato e/ou em acetil-CoA. Assim, a leucina é classificada como um aminoácido cetogênico, pois o acetoacetato é um corpo cetônico e o acetil-CoA é considerado um precursor de corpos cetônicos (NELSON & COX, 2008). O processo de catabolismo da leucina envolve várias reações enzimáticas, dentre estas destaca-se a carboxilação reversível do β-metilcrotonil-CoA em β-metilglutaconil-CoA, que é catalisada pela MCC, enzima mitocondrial, cuja atividade depende da presença de biotina e ATP (Figura 11) (BAUMGARTHER et al., 2001; MOCK, 2007). O mecanismo de carboxilação desta enzima é o mesmo descrito anteriormente para os demais CDB.

Demais funções metabólicas da biotina

Embora a função da biotina como coenzima apresente-se bem caracterizada, existem outras possíveis funções, menos conhecidas e estudadas, como a biotilação de proteínas e a expressão gênica. A biotina influencia funções da multiplicação celular através da biotilação das histonas (GROPPER & SMITH, 2012). As histonas são pequenas proteínas primárias que apresentam papel importante na manutenção do equilíbrio dinâmico da cromatina, a qual é fundamental para a regulação da expressão gênica durante as fases do desenvolvimento de organismos multicelulares (MARGUERON et al., 2005). A holocarboxilase sintetase (HCS) seja a enzima responsável pela biotilação das histonas em humanos. Estudos demonstraram que a biotilação é uma modificação

natural, porém rara nas histonas humanas (KUROISHI et al., 2011). A HCS liga-se a biotina e, em seguida, a transfere para as histonas em um processo denominado biotinilação (GROPPER & SMITH, 2012). A biotinilação das histonas é um campo de pesquisas relativamente novo, dessa forma evidências da importância dessa reação ainda são escassas. Entretanto, acredita-se que essa reação possa estar envolvida em processos biológicos como o controle do ciclo celular e a resposta celular a danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) (KOTHAPALLI et al., 2005). Sabe-se que mais de dois mil genes humanos dependem de biotina para expressão. Além disso, essa vitamina mostra-se necessária, sobretudo, para a transcrição de alguns genes e para a tradução de alguns RNA-mensageiros (RNAm) (GROPPER & SMITH, 2012).

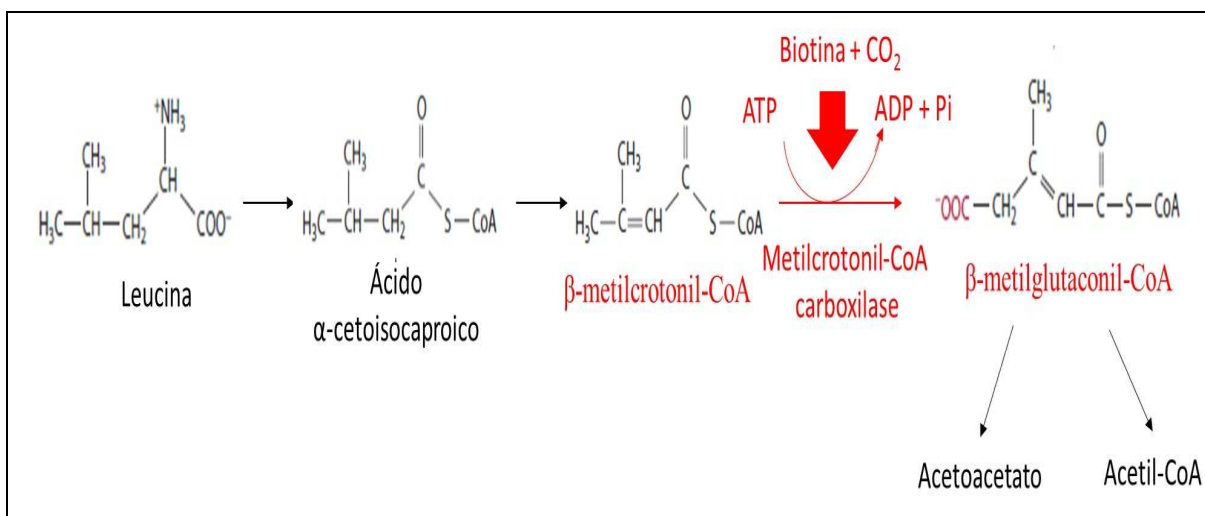


FIGURA 11 – Função da biotina no catabolismo da leucina (em vermelho). A MCC catalisa a conversão do β -metilcrotonil-Coa em β -metilglutaconil-CoA em um processo dependente de biotina e ATP.

Fonte: adaptado de GROPPER & SMITH (2012)

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOTINA NO RÚMEN

A biotina é um cofator fundamental nas reações de transcarboxilação, as quais são essenciais em todos os processos fermentativos no rúmen. A transformação do succinato em proprionato realizada por muitas bactérias celulolíticas ruminais, ocorre por meio de reações de transcarboxilação dependentes de biotina (ABEL et al., 2006). A produção de proprionato pela via do succinato ocorre em bovinos alimentados com dietas ricas em forragem, pois nessas condições não há produção de grandes quantidades de ácido lático como produto intermediário. Em dietas ricas em concentrado, uma via alternativa, a lactato-acrilato, promove aumento da produção de proprionato, através da utilização do ácido lático como produto intermediário (ANRIQUE, 2010).

A suplementação de biotina na dose de 0,96 mg/kg de peso vivo, não influenciou a proporção molar de ácidos AGV no rúmen de vacas de alta ou baixa produção leiteira (FERREIRA et al., 2007). Semelhantemente, observou-se que a suplementação de 0, 10 ou 20 mg de biotina para vacas de alta produção leiteira (acima de 40 kg/dia de leite), não alterou a proporção molar de acetato, butirato e proprionato no rúmen. Esses resultados sugerem que a suplementação de biotina não influencia a composição da população bacteriana ruminal (ZIMMERLY & WEISS, 2001). Entretanto, um estudo *in vitro* demonstrou que a restrição de biotina

no ambiente ruminal resulta em significativa redução na digestão de celulose, associada a redução na produção de acetato e propionato (MILLIGAN et al., 1967).

Em uma pesquisa para avaliar o efeito da suplementação com biotina na fermentação ruminal de vacas não lactantes, observou-se que o fornecimento de 40 mg/dia de biotina ocasionou aumento significativo da fermentação ruminal nas primeiras 12 horas. Entretanto, após 18 horas, a taxa de fermentação não diferiu entre os animais suplementados e não suplementados. Segundo os autores desse estudo, o aumento da taxa de fermentação inicial do rúmen indica uma degradação mais rápida de fibras, o que poderia levar a uma maior taxa de passagem ruminal, maior ingestão de MS e maior produção de leite (CRUYWAGEN & BUNGE, 2004). Sabe-se que o aumento do consumo de MS está associado a uma maior absorção de nutrientes, possibilitando, assim, maior produção de leite (CHEN et al., 2011). O aumento do consumo de MS em bovinos suplementados com biotina está, possivelmente, associado a dois fatores: (1) aumento do crescimento de bactérias celulolíticas e, conseqüente, aumento na digestibilidade de fibras (FITZGERALD et al., 2000; FERREIRA et al., 2007) e (2) melhora na saúde dos cascos, possibilitando maior locomoção e consumo (ZIMMERLY & WEISS, 2001; CHEN et al., 2011).

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOTINA NO CASCO

O casco ou estojo córneo consiste em uma cápsula cornificada que envolve os dois dígitos principais dos bovinos em cada membro (BUDRAS et al., 2011). Ele é formado por três camadas: a epiderme, a derme e a subcutis. A epiderme é composta por duas camadas, a mais profunda formada por células vivas e a superficial, que é mais espessa e formada por células mortas queratinizadas (GREENOUGH, 2007; SILVA et al., 2012). O tecido córneo é produzido através de um processo dinâmico e progressivo de diferenciação das células epidérmicas, conhecido como queratinização ou cornificação. Esse processo consiste na transformação de células epidérmicas altamente funcionais em células cornificadas mortas, estruturalmente estáveis e sem nenhuma atividade metabólica, as quais são conhecidas como queratinócitos (TOMLINSON et al., 2004).

Durante a queratinização, as células epidérmicas novas deslocam as células mais antigas para as camadas mais externas do casco. Simultaneamente ao deslocamento, sintetizam grandes quantidades de queratina, proteínas que se ligam entre si através de pontes dissulfeto, formando um complexo proteico no interior dos queratinócitos, que proporciona estabilidade mecânica e química ao tecido córneo (SILVA et al., 2012). A fase final do processo de queratinização consiste na produção e exteriorização para o espaço extracelular da substância cementante intercelular (SCI) (MULLING et al., 1999), a qual é composta por uma matriz extracelular rica em lipídios e glicoproteínas, responsáveis pela conexão e manutenção da estabilidade entre os queratinócitos, além de impermeabilizar o estrato córneo (BHADAURIA et al., 2013). Dessa forma, a SCI é fundamental para a formação de um tecido córneo de qualidade. Após a queratinização, a aparência microscópica do casco é semelhante à de uma parede, na qual os queratinócitos são os tijolos e a SCI a argamassa que os une (MULLING et al., 1999).

O fornecimento adequado de minerais e vitaminas é fundamental para a produção e manutenção de um estojo córneo saudável. Em situações em que o fornecimento de nutrientes importantes para o processo de queratinização é comprometido, há produção de tecido córneo de baixa qualidade e, conseqüentemente, maior suscetibilidade ao desenvolvimento de enfermidades (GREENOUGH, 2007). A biotina é, possivelmente, a vitamina de maior importância

para o processo de queratinização (TOMLINSON et al, 2004). Observou-se que a indução de deficiência de biotina em bovinos promoveu comprometimento quantitativo e qualitativo da produção de queratina e síntese de SCI de baixa qualidade. A biotina é um cofator fundamental de enzimas envolvidas na produção de queratina e, também, participa diretamente da síntese de lipídeos e da gliconeogênese, por ser cofator das CDB. Assim, certamente, a produção de SCI de baixa qualidade em animais com deficiência de biotina, está associada a distúrbios na síntese dos lipídeos, que compõem essa substância (MULLING et al., 1999).

As principais classes de lipídeos que compõem a SCI são as ceramidas, o colesterol e os ácidos graxos livres (BOUWSTRA & PONEC, 2006; MECKFESSEL & BRANDT, 2014). As ceramidas correspondem a aproximadamente 50% dos lipídios presentes no estrato córneo da pele humana, sendo essenciais para a formação da barreira protetora cutânea, de forma que sua deficiência está associada a doenças de pele (MECKFESSEL & BRANDT, 2014). No tecido córneo do casco, as ceramidas estão relacionadas a resistência e impermeabilização. Vacas com laminite subclínica apresentaram concentração de ceramidas na sola e na parede dos cascos, significativamente, menor do que vacas saudáveis. Além disso, observou-se que a menor concentração de ceramidas, esteve associada a maior umidade e menor dureza do casco. Portanto, a redução desse tipo de lipídeo no casco de vacas com laminite subclínica, pode ocasionar mudanças nas propriedades físicas do tecido córneo, predispondo ao surgimento de doenças podais (HIGUCHI et al., 2005).

Em dois estudos com vacas leiteiras, observou-se que a suplementação de 20 mg/dia de biotina durante cinco e 10 meses, respectivamente, promoveu aumento na quantidade de lipídeos do casco (HIGUCHI et al., 2004; RANDHAWA et al., 2008). Os autores sugerem que esse resultado esteja relacionado ao efeito positivo da biotina sobre a lipogênese, pois essa vitamina atua como coenzima da ACC, primeira enzima do processo de biossíntese dos ácidos graxos (RANDHAWA et al., 2008; VOET & VOET, 2011). Além disso, observou-se que vacas suplementadas com biotina apresentaram aumento qualitativo na densidade de ceramidas presentes na sola do casco, associado a uma redução significativa na severidade das lesões podais. Diante disso, nota-se que a suplementação com biotina promove aumento da densidade de ceramidas no casco e, conseqüentemente, aumento na saúde do tecido córneo (RANDHAWA et al., 2008).

Vacas leiteiras com as seguintes enfermidades digitais: necrobacilose interdigital, úlcera de sola, abscesso subsolear, doença da linha branca (DLB), laminite crônica e artrite séptica; apresentaram redução significativa da concentração sérica de biotina em relação a vacas saudáveis, indicando que a redução da concentração dessa vitamina no sangue pode afetar a qualidade do casco de vacas leiteiras. Ademais, observou-se que a baixa concentração sérica de biotina esteve associada com o aumento do estresse oxidativo, evidenciado pela elevação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRAT), principal marcador da ocorrência de lesões em membranas celulares devido ao estresse oxidativo (AL-QUDAH & ISMAIL, 2012). Esse resultado está de acordo com outro estudo, no qual pôneis portadores de laminite crônica apresentaram aumento da concentração de SRAT na urina em comparação à pôneis saudáveis (NEVILLE et al., 2004). Portanto, supõe-se que a biotina também apresente importância no equilíbrio oxidativo ou atue como agente antioxidante em animais portadores de doenças digitais. No entanto, ainda não se sabe a exata função dessa vitamina diante de situações de estresse oxidativo em bovinos (AL-QUDAH & ISMAIL, 2012).

Vários trabalhos demonstraram que a suplementação com biotina em bovinos, tanto de aptidão leiteira quanto de produção de carne, promoveu melhora na qualidade do casco e, conseqüentemente, redução das afecções podais (CAMPBELL et al., 2000; FITZGERALD et al., 2000; BERGSTEN et al., 2003; POTZSCH et al., 2003;; SILVA et al., 2010). A suplementação de bezerras de 1 ano de idade com 12,5 mg/dia de biotina por animal durante 40 dias, promoveu aumento significativo da taxa de crescimento do casco (SILVA et al., 2010). Semelhantemente, vacas leiteiras suplementadas com 20 mg/dia de biotina apresentaram cascos mais duros e com menor teor de umidade após 10 meses de suplementação (HIGUCHI et al., 2004). Na Austrália, vacas leiteiras criadas a pasto foram suplementadas com 20 mg/dia de biotina durante 13 meses, resultando em melhora do escore de locomoção, em relação às vacas não suplementadas. No entanto, observou-se que nos primeiros 4 meses do experimento, não houve diferenças quanto ao escore de locomoção dos animais suplementados e não suplementados. Os autores atribuíram esse resultado ao tempo necessário para a renovação da sola do casco, que é de três a quatro meses (FITZGERALD et al., 2000).

Em um estudo realizado no Reino Unido, observou-se que a suplementação com 20 mg/dia de biotina por animal reduziu em 45% a incidência de DLB em vacas múltiparas. Entretanto, não houve diferença significativa quanto a incidência de DLB em primíparas tratadas e não tratadas. Os autores atribuíram esse resultado a baixa ocorrência de claudicação em primíparas, de forma que esse valor não foi suficiente para detectar um efeito significativo da suplementação de biotina nesses animais. Além disso, observou-se que o fornecimento dessa vitamina resultou em redução da incidência de DLB, somente, após seis meses de suplementação (POTZSCH et al., 2003). Em outro estudo, observou-se que a suplementação de vacas com 20 mg/dia de biotina, também reduziu significativamente a incidência de DLB. Entretanto, a redução nos índices de claudicação foi observada após 130 dias de suplementação (HEDGES et al., 2001).

Vacas leiteiras suplementadas com 20 mg/dia de biotina durante 14 meses apresentaram menor incidência de hemorragias de sola (24%) em comparação ao grupo controle (50%). Entretanto, não houve diferença significativa entre os animais suplementados e não suplementados quanto a incidência de sola dupla, fissuras longitudinais do casco e erosão de talão. Segundo os autores desse estudo, a biotina melhora a qualidade do casco, favorecendo a substituição do tecido córneo defeituoso e a cicatrização, além de reduzir a incidência de lesões na sola do casco provenientes dos estágios iniciais da laminite (BERGSTEN et al., 2003).

O fornecimento diário de 10 mg de biotina para vacas de corte criadas extensivamente, promoveu uma significativa redução na incidência de fissuras verticais no casco. Após dois anos de suplementação, observou-se que as vacas não tratadas com biotina apresentaram, aproximadamente, duas vezes mais chances de apresentarem fissuras verticais nos cascos. Entretanto, esse efeito foi significativo somente após um ano de suplementação. Em concordância com esse resultado, um estudo demonstrou que a suplementação de vacas leiteiras com 20 ou 40 mg/dia de biotina durante 60 dias, não resultou em melhora na qualidade do casco (CHEN et al., 2012). Demonstrando que os benefícios da suplementação dessa vitamina para a qualidade do casco estão associados ao fornecimento prolongado (CAMPBELL et al., 2000).

O efeito terapêutico da suplementação com biotina foi avaliado na cicatrização de úlceras de sola em vacas leiteiras. Nesse estudo, observou-se que o

fornecimento de 40 mg/dia de biotina durante 50 dias, não resultou em melhora na qualidade da cicatrização das úlceras de sola em avaliações clínicas e macroscópicas. Entretanto, as análises histológicas revelaram um significativo aumento da qualidade do tecido córneo cicatricial, sobretudo nas camadas mais profundas da epiderme. Sugerindo que a suplementação com biotina exerça efeito positivo sobre a cicatrização de úlceras de sola, embora o período de 50 dias mostre-se muito curto para permitir a identificação de alterações macroscópicas na qualidade do casco (LISCHER et al., 2002).

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOTINA NA PRODUÇÃO LEITEIRA

Vários estudos demonstraram que a suplementação com biotina promove efeitos positivos sobre a produção de vacas leiteiras, entretanto observou-se que esse efeito positivo tem ocorrido principalmente em vacas de alta produção (ZIMMERLY & WEISS, 2001; BERGSTEN et al., 2003; MAJEE et al., 2003; ROSENDO et al., 2004; ENJALBET et al., 2008). Outros estudos, porém, demonstraram pouco ou nenhum efeito dessa vitamina na produção leiteira (ROSENDO et al., 2004; FERREIRA et al., 2007; GANJKHANLOU et al., 2007; REYNOLDS et al., 2007). Uma meta-análise demonstrou que a baixa heterogeneidade dos resultados indica que a suplementação de biotina, realmente, promove aumento da produção leiteira em vacas (CHEN et al., 2011), porém o mecanismo pelo qual esse aumento ocorre é desconhecido (FERREIRA et al., 2007). Esse efeito positivo ocorre devido aos seguintes fatores: aumento da ingestão de MS devido a melhora na saúde dos cascos, maior uso de nutrientes teciduais para a produção de leite, aumento da produção de glicose e aumento da fermentação de celulose no rúmen (ZIMMERLY & WEISS, 2001).

Sabe-se que o suprimento de glicose para a glândula mamária é o principal determinante da produção de vacas leiteiras (REYNOLDS et al., 1994), porém a concentração sanguínea de glicose em vacas suplementadas com biotina tem apresentado resultados conflitantes. Encontrou-se um estudo demonstrando que o fornecimento de biotina proporcionou aumento da concentração de glicose sanguínea (ROSENDO et al., 2004), enquanto que em três estudos observou-se que a suplementação dessa vitamina não resultou em aumento de glicose sanguínea (ZIMMERLY & WEISS, 2001; GANJKHANLOU et al., 2007; CHEN et al., 2012;). Entretanto, ressalte-se que a concentração de glicose sanguínea não quantifica a glicose produzida ou absorvida pela glândula mamária para a síntese de leite, dessa forma esse parâmetro não pode ser utilizado para justificar o aumento da produção leiteira em vacas suplementadas com biotina (ZIMMERLY & WEISS, 2001). Em um estudo, avaliou-se a disponibilização de glicose pelo fígado em vacas leiteiras suplementadas com 20 mg/dia de biotina durante duas semanas. Amostras sanguíneas foram colhidas diretamente de veias hepáticas e observou-se que a suplementação dessa vitamina não influenciou a disponibilização de glicose pelo fígado (REYNOLDS et al., 2007).

A biotina é cofator das enzimas PC e PCC, as quais são essenciais para a via da gliconeogênese (DAKSHINAMURTI & CHAUHAN, 1988). Dessa forma, se a atividade dessas enzimas é limitada pela baixa concentração de biotina, a produção de glicose poderia ser aumentada diante de um maior fornecimento dessa vitamina (ZIMMERLY & WEISS, 2001). Observou-se que a suplementação de biotina para vacas em lactação aumentou a atividade hepática da enzima PC, porém não aumentou a atividade da PCC, que é uma das enzimas envolvidas no metabolismo do propionato, principal precursor de glicose em ruminantes (FERREIRA & WEISS,

2007). O propionato é o precursor de aproximadamente 66% da glicose sintetizada no fígado de vacas no pico de lactação (REYNOLDS et al., 2003). Assim, diante da importância do propionato para a síntese de glicose em ruminantes, a PCC possivelmente apresenta maior afinidade pela biotina, fato que explica a diferença entre os efeitos da suplementação de biotina para PC e PCC. Diante disso, sugere-se que o aumento da produção de leite em vacas suplementadas com biotina, pode ser devido ao aumento da atividade das PC (FERREIRA & WEISS, 2007).

Vacas de alta produção alimentadas com dieta com 50,3% de concentrado e suplementadas com 0, 10 ou 20 mg de biotina por 14 dias pré-parto e 100 dias pós-parto, apresentaram aumento linear da produção leiteira (36,9, 37,8 e 39,7 kg/dia de leite, respectivamente) (ZIMMERLY & WEISS, 2001). Em outro experimento, vacas primíparas e múltiparas alimentadas com dieta contendo 38% de concentrado, receberam suplementação diária de 0 ou 20 mg de biotina por 15 dias pré-parto e 120 pós-parto. Observou-se que vacas múltiparas tratadas com biotina apresentaram aumento de 4 kg/dia na produção leiteira, durante as seis primeiras semanas de lactação. No entanto, a partir da sétima e até a décima sétima semana, a biotina não influenciou significativamente na produção leiteira. Segundo os autores, a digestão ruminal e a síntese de biotina foi influenciada pela adaptação à dieta durante as primeiras semanas de lactação, resultando em um forte efeito positivo na produção leiteira. Entretanto, em razão da quantidade relativamente baixa de concentrado fornecido (38% da dieta), o fluxo de biotina proveniente do rúmen foi suficiente para suprir as necessidades das vacas do grupo controle após o pico de lactação, resultando em ausência de diferença significativa entre os grupos após a sétima semana de lactação (ENJALBERT et al., 2008). Esse resultado sugere que, assim como já observado em experimentos *in vitro*, a redução do pH ruminal ocasiona diminuição na síntese de biotina pela microbiota do rúmen (ABEL et al., 2001).

A suplementação de biotina na dose de 0,96 mg/kg promoveu aumento na produção leiteira em vacas de alta produção (acima de 40 kg/dia de leite), porém não ocasionou alterações em vacas de baixa produção (média de 24 kg/dia de leite) (FERREIRA et al., 2007). Vacas de alta produção possuem metabolismo acelerado, dessa forma apresentem maior requerimento de biotina, beneficiando-se da suplementação dessa vitamina (CHEN et al., 2011).

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOTINA EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

A literatura mostra que a suplementação de biotina em vacas leiteiras em início de lactação, exerce pouca ou nenhuma influência quanto aos parâmetros bioquímicos que avaliam a intensidade do balanço energético negativo após o parto (ZIMMERLY & WEISS, 2001; MAJEE et al., 2003; GANJKHANLOU et al., 2007; REYNOLDES et al., 2007; CHEN et al., 2012). Vacas suplementadas com 0, 10 ou 20 mg/dia de biotina por 14 dias pré-parto e 100 dias pós-parto, não apresentaram diferenças significativas quanto a concentração plasmática de glicose, insulina ou ácidos graxos não esterificados (AGNE) (ZIMMERLY & WEISS, 2001). Em outro estudo, vacas em lactação receberam as mesmas doses de biotina citadas anteriormente, entretanto durante um período de 28 dias. Semelhantemente, observou-se que não houve influência nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina (GANJKHANLOU et al., 2007). A suplementação de vacas em lactação durante 70 dias com 0, 20 ou 40 mg/dia de biotina, não influenciou as concentrações plasmática de glicose, triglicerídeos e AGNE (CHEN et al., 2012). Da mesma forma, vacas de alta produção leiteira (acima de 40 kg/dia) receberam os seguintes

tratamentos durante 28 dias: dieta controle, suplementação diária de 20 mg de biotina, mistura contendo todas as vitaminas do complexo B e a mesma mistura de vitaminas do complexo B, porém em concentrações dobradas. Nesse estudo, observou-se que nenhum dos tratamentos influenciou as concentrações plasmáticas de glicose, AGNE e beta-hidroxibutirato (MAJEE et al., 2003).

Em apenas um estudo foi observado influência da suplementação com biotina quanto a concentração plasmática de glicose e AGNE. Nesse, vacas que receberam 20 mg/dia de biotina por 16 dias pré-parto e, em seguida, 30 mg/dia durante 70 dias pós-parto, apresentaram aumento da concentração plasmática de glicose. Os autores desse estudo atribuíram esse resultado ao aumento da gliconeogênese e ao possível aumento da produção de proprionato no rúmen. Nesse mesmo estudo, vacas que receberam biotina apresentaram menor concentração plasmática de AGNE, em relação a vacas que não receberam. Possivelmente, a redução na concentração dos AGNE ocorreu em razão da inibição da lipólise, diante da maior concentração plasmática de glicose. Ainda, realizou-se biópsias hepáticas das vacas suplementadas e não suplementadas, a fim de avaliar-se a concentração de lipídeos totais e triacilglicerol no fígado. Observou-se que vacas suplementadas apresentaram tendência a uma redução mais rápida da concentração total de lipídeos e triacilglicerol no fígado. De forma que nos dias 16 e 30 pós-parto, vacas suplementadas apresentaram, respectivamente, 17% e 13% menos lipídeos totais no fígado e, respectivamente, 24% e 37%, menos triacilglicerol hepático do que vacas não suplementadas. Segundo os autores, a redução da concentração de lipídeos e triacilglicerol no fígado de vacas que receberam biotina, pode ter ocorrido como resultado da redução da concentração plasmática de AGNE. Portanto, a suplementação de biotina pode ocasionar algum efeito metabólico positivo, sobretudo na redução de lipídeos no fígado em vacas que passam pelo balanço energético negativo (ROSENDO et al., 2004).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biotina é uma vitamina fundamental para a saúde dos mamíferos, pois atua como cofator de várias enzimas envolvidas na gliconeogênese, na síntese e degradação de ácidos graxos, na síntese de proteínas e na degradação de aminoácidos. Atualmente, muito se sabe sobre as fontes de biotina, seus mecanismos de absorção e sua função na atividade enzimáticas das carboxilases. Entretanto, as pesquisas sobre a importância dessa vitamina na expressão gênica e na resposta celular a danos ao DNA, ainda são recentes e há poucas informações sobre o assunto.

Nos ruminantes, a biotina apresenta grande importância para a saúde e qualidade do tecido córneo do casco, de forma que o suprimento adequado está associado a redução na ocorrência de afecções podais. Além disso, o consumo de dietas ricas em concentrado promove redução da síntese dessa vitamina pela microbiota ruminal, fato que pode estar associado a maior ocorrência de doenças digitais em vacas de alta produção leiteira, pois estas ingerem altas quantidades de concentrado e possuem metabolismo acelerado, demandando maior aporte de biotina. A suplementação de biotina para bovinos promove efeitos positivos no casco, resultando em um tecido córneo de melhor qualidade e redução da incidência de doenças podais. Os benefícios da biotina para a qualidade do casco estão relacionados a maior produção de lipídeos, que compõem a SCI e a maior produção de queratina. Entretanto, os mecanismos envolvidos nesses processos ainda não foram totalmente esclarecidos.

A suplementação de biotina também exerce efeito positivo sobre a produtividade leiteira, sobretudo em vacas de alta produção, pois necessitam de altas concentrações de biotina no fígado para a realização da gliconeogênese, a fim de garantir suprimento adequado de energia para a expressão do seu potencial genético. Diante disso, a suplementação de biotina para bovinos, em especial, vacas leiteiras de alta produção é um manejo nutricional que deve ser considerado pelos produtores e médicos veterinários, visando reduzir gastos com tratamentos de doenças digitais e aumentar a produção leiteira.

Apesar da importância para a saúde dos bovinos, não há uma recomendação definitiva sobre a quantidade diária de biotina que deve ser ingerida por essa espécie. Dessa forma, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos visando estabelecer as necessidades diárias de biotina em bovinos, sobretudo em vacas leiteiras de alta produção. Além disso, é necessário esclarecer os mecanismos envolvidos na melhora da qualidade do casco e no aumento da produção leiteira em bovinos suplementados com essa vitamina, visando identificar as vias metabólicas pelas quais essa vitamina promove esses benefícios.

REFERÊNCIAS

ABEL, H.; IMMIG, I.; GOMEZ, C. C.; STEINBERG, W. Research note: effect of increasing dietary concentrate levels on microbial biotin metabolism in the artificial rumen simulation system (RUSITEC). **Archiv Für Tierernaehrung**, v.55, n.4, p.371-376, 2001.

ABEL, H.; SCHRÖDER, B.; LEBZIEN, P.; FLACHOWSKY, G. Effects of defaunation on fermentation characteristics and biotin balance in an artificial rumen-simulation system (RUSITEC) receiving diets with different amounts and types of cereal. **British Journal of Nutrition**, v.95, n.1, p.99-104, 2006.

AL-QUDAH, K. M.; ISMAIL, Z. B. The relationship between serum biotin and oxidant/antioxidant activities in bovine lameness. **Research in Veterinary Science**, v.92, n.1, p.138-141, 2012.

ANRIQUE, R. Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono. In: CONTRERAS, P. A.; NORO, M. (Eds.) **Rumen: morfofisiologia, transtornos y modulación de la actividad fermentativa**. 3 ed. Valdivia: América, p.25-36, 2010.

BALAMURUGAN, K.; ORTIZ, A.; SAID, H. M. Biotin uptake by human intestinal and liver epithelial cells: role of the SMVT system. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.285, n.1, p.73-77, 2003.

BAUMGARTNER, M. R.; ALMASHANU, S.; SUORMALA, T.; OBIE, C.; COLE, R. N.; PACKMAN, S.; BAUMGARTNER, E. R.; VALLE, D. The molecular basis of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. **Journal of Clinical Investigation**, v.107, n.4, p. 495-504, 2001.

BENDER, D. A. **Nutritional biochemistry of the vitamins**. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 488p, 2003.

BERGSTEN, C.; GREENOUGH, P. R.; GAY, J. M.; SEYMOUR, W. M.; GAY, C. C. Effects of biotin supplementation on performance and claw lesions on a commercial dairy farm. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.12, p.3953-3962, 2003.

BHADAURIA, P.; LATHWAL, S. S.; JADOUN, Y. S.; BHADAURIA, S. S. Role of biotin in prevention of lameness in dairy cattle-review. **Wayamba Journal of Animal Science**, v.6, n.1, p.635-646, 2013.

BOAS, M. A. The effect of desiccation upon the nutritive properties of egg-white. **Biochemical Journal**, v.21, n.3, p.712-724, 1927.

BOUWSTRA, J. A.; PONEC, M. The skin barrier in healthy and diseased state. **Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes**, v.1758, n.12, p.2080-2095, 2006.

BU, L.; GAN, L. C.; GUO, X. Q.; CHEN, F. Z.; SONG, Q.; QI, Z.; GOU, X. J.; HOU, S. X.; YAO, Q. Trans-resveratrol loaded chitosan nanoparticles modified with biotin and avidin to target hepatic carcinoma. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.452, n.1-2, p.355-362, 2013.

BUDRAS, K. D. G. P.; HABEL, R.E.; MULLING, C. K. W. **Bovine anatomy**. 2 ed. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft, 176p, 2011.

CAMPBELL, J. R.; GREENOUGH, P. R.; PETRIE, L. The effects of dietary biotin supplementation on vertical fissures of the claw wall in beef cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v.41, n.9, p.690-694, 2000.

CHEN, B.; WANG, C.; LIU, J. X. Effects of dietary biotin supplementation on performance and hoof quality of Chinese Holstein dairy cows. **Livestock Science**, v.148, n.1-2, p.168-173, 2012.

CHEN, B.; WANG, C.; WANG, Y. M.; LIU, J. X. Effect of biotin on milk performance of dairy cattle: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.7, p.3537-3546, 2011.

CRUYWAGEN, C. W.; BUNGE, G. A. The effect of supplemental biotin in dairy cow diets on fibre fermentation patterns as measured by in vitro gas production. **South African Journal of Animal Science**, v.34, n.2, p.68-70, 2004.

DAKSHINAMURTI, K.; CHAUHAN, J. Regulation of Biotin Enzymes. **Annual Review of Nutrition**, v.8, n.1, p.211-233, 1988.

DU VIGNEAUD, V.; MELVILLE, D. B.; GYÖRGY, P.; ROSE, C. S. On the identity of vitamin H with biotin. **Science**, v.92, n.2377, p.62-63, 1940.

ENGELKING, L. R. **Textbook of veterinary physiological chemistry**. 2 ed. Burlington: Elsevier, 596p, 2011.

ENJALBERT, F.; NICOT, M. C.; PACKINGTON, A. J. Effects of peripartum biotin supplementation of dairy cows on milk production and milk composition with emphasis on fatty acids profile. **Livestock Science**, v.114, n.2-3, p.287-95. 2008.

FERREIRA, G.; WEISS, W. P.; WILLETT, L. B. Changes in measures of biotin status do not reflect milk yield responses when dairy cows are fed supplemental biotin. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.3, p.1452-59, 2007.

FERREIRA, G.; WEISS, W. P. Effect of biotin on activity and gene expression of biotin-dependent carboxylases in the liver of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.3, p.1460-1466, 2007.

FITZGERALD, T.; NORTON, B. W.; ELLIOTT, R.; PODLICH, H.; SVENDSEN, O. L. The influence of long-term supplementation with biotin on the prevention of lameness in pasture fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.2, p.338-344, 2000.

FRIGG, M.; HARTMANN, D.; STRAUB, O. C. Biotin kinetics in serum of cattle after intravenous and oral dosing. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.64, n.1, p.36-40, 1994.

GANJKHANLOU, M.; SALIMI, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effects of supplemental dietary biotin on performance of holstein dairy cows. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.10, n.17, p.2960-2963, 2007.

GRAFE, F.; WOHLRAB, W.; NEUBERT, R. H.; BRANDSCH, M. Transport of biotin in human keratinocytes. **Journal of Investigative Dermatology**, v.120, n.3, p.428-433, 2003.

GREENOUGH, P. **Bovine laminitis and lameness: a hands on approach**. St. Louis: Saunders Elsevier, 311p, 2007.

GROPPER, S. S.; SMITH, J. L. **Advanced nutrition and human metabolism**. 6 ed. Belmont: Wadsworth Cengage Learning, 586p, 2012.

GYÖRGY, P.; ROSE, C. S.; EAKIN, R. E.; SNELL, E. E.; WILLIAMS, R. J. Egg-white injury as the result of nonabsorption or inactivation of biotin. **Science**, v.93, n.2420, p.477-478, 1941.

GYÖRGY, P. The curative factor (vitamin h) for egg white injury, with particular reference to its presence in different foodstuffs and in yeast. **Journal of Biological Chemistry**, v.131, n.2, p.733-744, 1939.

HARRIS, S. A.; WOLF, D. E.; MOZINGO, R.; FOLKERS K. Synthetic biotin. **Science**, v.97, n.2524, p.447-448, 1943.

HEDGES, J.; BLOWEY, R. W.; PACKINGTON, A. J.; O'CALLAGHAN, C. J.; GREEN, L. E. A longitudinal field trial of the effect of biotin on lameness in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.9, p.1969-1975, 2001.

HIGUCHI, H.; MAEDA, T.; NAKAMURA, M.; KUWANO, A.; KAWAI, K.; KASAMATSU, M.; NAGAHATA, H. Effects of biotin supplementation on serum biotin levels and physical properties of samples of solar horn of Holstein cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.68, n.2, p.93-97, 2004.

HIGUCHI, H.; NAKAMURA, M.; KUWANO, A.; KASAMATSU, M.; NAGAHATA, H. Quantities and types of ceramides and their relationships to physical properties of the horn covering the claws of clinically normal cows and cows with subclinical laminitis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.69, n.2, p.155-158, 2005.

HOFMANN, K.; MELVILLE, D. B.; DU VIGNEAUD, V. Characterization of the functional groups of biotin. **Journal of Biological Chemistry**, v.141, n.1, p.207-214, 1941.

HORTON, H. R.; MORAN, L. A.; SCRIMGEOUR, K. G.; PERRY, M. D.; RAWN, J. D. **Principios de Bioquímica**. 4 ed. Naucalpan de Juárez: Pearson Educación, 853p, 2008.

JITRAPAKDEE, S.; WALLACE, J. C. Structure, function and regulation of pyruvate carboxylase. **Biochemical Journal**, v.340, n.1, p.1-16, 1999.

JITRAPAKDEE, S.; WALLACE, J. C. The biotin enzyme family: conserved structural motifs and domain rearrangements. **Current Protein & Peptide Science**, v.4, n.3, p.217-229, 2003.

KHAN, M.; PARK, S. Y. Specific detection of avidin-biotin binding using liquid crystal droplets. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.127, p.241-246, 2015.

KNOWLES, J. R. The mechanism of biotin-dependent enzymes. **Annual Review of Biochemistry**, v.58, p.195-221, 1989.

KOTHAPALLI, N.; CAMPOREALE, G.; KUEH, A.; CHEW, Y. C.; OOMMEN, A. M.; GRIFFIN, J. B.; ZEMPLINI, J. Biological functions of biotinylated histones. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, n.7, p.446-448, 2005.

KRESGE, N.; SIMONI, R. D.; HILL, R. L. The discovery of avidin by Esmond E. Snell. **Journal of Biological Chemistry**, v.279, n.41, p.5-6, 2004.

KUROISHI, T.; RIOS-AVILA, L.; PESTINGER, V.; WIJERATNE, S. S. K.; ZEMPLINI, J. Biotinylation is a natural, albeit rare, modification of human histones. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.104, n.4, p.537-545, 2011.

LANSKA, D. J. The discovery of niacin, biotin, and pantothenic acid. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.61, n.3, p.246-253, 2012.

LISCHER, C. J.; KOLLER, U.; GEYER, H.; MULLING, C. H.; SCHULZE, J.; OSSENT, P. Effect of therapeutic dietary biotin on the healing of uncomplicated sole ulcers in dairy cattle – a double blinded controlled study. **Veterinary Journal**, v.163, n.1, p.51-60, 2002.

LOMBARD, J.; MOREIRA, D. Early evolution of the biotin-dependent carboxylase family. **BMC Evolutionary Biology**, v.1, p.232-254, 2011.

LYNEN, F. The role of biotin-dependent carboxylations in biosynthetic reactions. **Biochemical Journal**, v.102, n.2, p.381-400, 1967.

MAJEE, D. N.; SCHWAB, E. C.; BERTICS, S. J.; SEYMOUR, W. M.; SHAVER, R. D. Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B-vitamin blend. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.6, p.2106-2112, 2003.

MARGUERON, R.; TROJER, P.; REINBERG, D. The key to development: interpreting the histone code? **Current Opinion in Genetics & Development**, v.15, n.2, p.163-176, 2005.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D.; MORGAN, C. A.; SINCLAIR, L. A.; WILKINSON, R. G. **Animal nutrition**. 7 ed. New York: Pearson, 692p, 2010.

MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal and human nutrition**. 2 ed. Ames: Iowa State University Press, 793p, 2000.

MCMAHON, R. J. Biotin in metabolism and molecular biology. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p221-239, 2002.

MECKFESSEL, M. H.; BRANDT, S. The structure, function, and importance of ceramides in skin and their use as therapeutic agents in skin-care products. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.71, n.1, p.177-184, 2014.

MELVILLE, D. B.; MOYER, A. W.; HOFMANN, K.; DU VIGNEAUD, V. The structure of biotin: the formation of thiophenevaleric acid from biotin. **Journal of Biological Chemistry**, v.146, n.2, p.487-492, 1942.

MILLIGAN, L. P.; ASPLUND, J. M.; ROBBLEE, A. R. In vitro studies on the role of biotin in the metabolism of rumen microorganisms. **Canadian Journal of Animal Science**, v.47, n.1, p.57-64, 1967.

MOCK, D. M.; HENRICH, C. L.; CARNELL, N.; MOCK, N. I. Indicators of marginal biotin deficiency and repletion in humans: validation of 3-hydroxyisovaleric acid excretion and a leucine challenge. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.5, p.1061-1068, 2002.

MOCK, D. M.; MALIK, M. I. Distribution of biotin in human plasma: most of the biotin is not bound to protein. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.56, n.2, p.427-432, 1992.

MOCK, D. M. Biotin. In: ZEMPLINI, J.; RUCKER, R. B.; MCCORMICK, D. B.; SUTTIE, J. W. (Eds). **Handbook of vitamins**. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 361-384p, 2007.

MULLING, C. K.; BRAGULLA, H. H.; REESE, S.; BUDRAS, K. D.; STEINBERG, W. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. **Anatomy Histology Embryology**, v.28, n.2, p.103-108, 1999.

MURRAY, R. K.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M.; KENNELLY, P. J.; RODWELL, V. W.; WEIL, P. A. **Harper's illustrated biochemistry**. 29 ed. São Francisco: McGraw-Hill Medical, 693p, 2012.

NABOKINA, S. M.; SUBRAMANIAN, V. S.; SAID, H. M. Comparative analysis of ontogenic changes in renal and intestinal biotin transport in the rat. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v.284, n.4, p.737-742, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington: National Academy of Sciences, 381p, 2001.

NELSON, D.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 5 ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1158p, 2008.

NEVILLE, R. F.; HOLLANDS, T.; COLLINS, S. N.; KEYTE, F. V. Evaluation of urinary TBARS in normal and chronic laminitic ponies. **Equine Veterinary Journal**, v.36, n.3, p.292-294, 2004.

POTZSCH, C. J.; HEDGES, V. J.; BLOWEY, R. W.; PACKINGTON, A. J.; GREEN, L. E. The impact of parity and duration of biotin supplementation on white line disease lameness in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.8, p.2577-2582, 2003.

RANDHAWA, S. S.; DUA, K.; RANDHAWA, C. S.; RANDHAWA, S. S.; MUNSHI, S. K. Effect of biotin supplementation on hoof health and ceramide composition in dairy cattle. **Veterinary Research Communications**, v.32, n.8, p.599-608, 2008.

REYNOLDS, C. K.; AIKMAN, P. C.; LUPOLI, B.; HUMPHRIES, D. J.; BEEVER, D. E. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1201-1217, 2003.

REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D. E.; STEINBERG, W.; PACKINGTON, A. J. Net nutrient absorption and liver metabolism in lactating dairy cows fed supplemental dietary biotin. **Animal**, v.1, n.3, p.375-380, 2007.

REYNOLDS, C. K.; HARMON, D. L.; CECAVA, M. J. Absorption and delivery of nutrients for milk protein synthesis by portal-drained viscera. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.9, p.2787-2808, 1994.

ROSENDO, O.; BATES, D. B.; MCDOWELL, L. R.; STAPLES, C. R.; MCMAHON, R.; WILKINSON, N. S. Availability and ability of biotin for promoting forage fiber in vitro ruminal digestibility. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.2, n.6, p.350-357, 2003.

ROSENDO, O.; STAPLES, C. R.; MCDOWELL, L. R.; MCMAHON, R.; BADINGA, L.; MARTIN, F. G.; SHEARER, J. F.; SEYMOUR, W. M.; WILKINSON, N. S. Effects of biotin supplementation on peripartum performance and metabolites of holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.8, p.2535-2545, 2004.

RUSSELL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, v.292, n.5519, p.1119-1122, 2001.

SAID, H. M.; REDHA, R.; NYLANDER, W. Biotin transport in basolateral membrane vesicles of human intestine. **Gastroenterology**, v.94, n.5, p.1157-1163, 1988.

SAID, H. M.; REDHA, R. Biotin transport in rat intestinal brush-border membrane vesicles. **Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes**, v.945, n.2, p.195-201, 1988.

SAID, H. M. Biotin: the forgotten vitamin. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.75, n.2, p.179-180, 2002.

SAID, H. M. Cell and molecular aspects of human intestinal biotin absorption. **Journal of Nutrition**, v.139, n.1, p.158-162, 2009.

SAID, H. M. Cellular uptake of biotin: mechanisms and regulation. **Journal of Nutrition**, v.129, n.2, p.490-493, 1999.

SAID, H. M. Recent advances in carrier-mediated intestinal absorption of water-soluble vitamins. **Annual Review of Physiology**, v.66, p.419-446, 2004.

SAMOLS, D.; THORNTON, C. G.; MURTIF, V. L.; KUMAR, G. K.; HAASE, F. C.; WOOD, H. G.; Evolutionary conservation among biotin enzymes. **Journal of Biological Chemistry**, v.263, n.14, p.6461-6464, 1988.

SANTSCHI, D. E.; BERTHIAUME, R.; MATTE, J. J.; MUSTAFA, A. F.; GIRARD, C. L. Fate of supplementary B-vitamins in the gastrointestinal tract of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.6, p.2043-2054, 2005.

SANTSCHI, D. E.; CHIQUETTE, J.; BERTHIAUME, R.; MARTINEAU, R.; MATTE, J. J.; MUSTAFA, A. F.; GIRARD, C. L. Effects of the forage to concentrate ratio on B-vitamin concentrations in different ruminal fractions of dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, n.3, p.389-399, 2005.

SANTSCHI, D. E.; GIRARD, C. L. Calculations of apparent ruminal synthesis and intestinal absorption of biotin in dairy cows as influenced by the extraction method. **Archives of Animal Nutrition**, v.61, n.3, p.157-167, 2007.

SCHWAB, E. C.; SCHWAB, C. G.; SHAVER, R. D.; GIRARD, C. L.; PUTNAM, D. E.; WHITEHOUSE, N. L. Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow, and apparent ruminal synthesis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.1, p.174-187, 2006.

SCOTT, H. W.; DEHORITY, B. A. Vitamin requirements of several cellulolytic rumen bacteria. **Journal of Bacteriology**, v.89, n.5, p.1169-1175, 1965.

SILVA, L. A. F.; EURIDES, D.; NORONHA FILHO, A. D. F. **Complexo acidose ruminal e laminite**. Goiânia: Kelps, 128p, 2012.

SILVA, L. A. F.; FRANCO, L. G.; ATAYDE, I. B.; CUNHA, P. H. J.; MOURA, M. I.; GOULART, D. S. Effect of biotin supplementation on claw horn growth in young, clinically healthy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.51, n.6, p.607-610, 2010.

TOMLINSON, D. J.; MULLING, C. H.; FAKLER, T. M. Formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.4, p.797-809, 2004.

TONG, L. Structure and function of biotin-dependent carboxylases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.70, n.5, p.863-891, 2013.

VANNUCCHI, H.; CUNHA, S. F. C. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - vitaminas do complexo B: tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, biotina e ácido pantotênico.** São Paulo: ILSI Brasil, 34p, 2009.

VOET, D, VOET, J. G. **Biochemistry.** 4 ed. New York: John Wiley & Sons, 1428p, 2011.

WEISS, B. Effect of supplemental biotin on performance of lactating dairy cows. In: **Dia Internacional Ganadero Lechero Conference**, 2001, Delicias, México. Anais eletrônicos... Columbus: Ohio State University, 2001. Disponível em: <<http://dairy.osu.edu/resource/feed/biotinforweb.pdf>>. Acesso em: 3 set. 2015.

YOETZ-KOPELMAN, T.; RAM, Y.; FREEMAN, A.; SHACHAM-DIAMAND, Y. Faradaic impedance spectroscopy for detection of small molecules Binding using the avidin-biotin model. **Electrochimica Acta**, v.173, p.630-635, 2015.

ZIMMERLY, C. A.; WEISS, W. P. Effects of supplemental dietary biotin on performance of holstein cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.2, p.498-506, 2001.